

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Hochschule zu Gießen
Direktor: Prof. Dr. H. Keller

Versuche zur bakteriellen Aromatisierung
von Rohwürsten

STANFORD-LANE MEDICAL LIBRARY
2395 SACRAMENTO ST.
SAN FRANCISCO 15, CALIF.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Hochschule zu Gießen

vorgelegt von
Ernst Meyer
Tierarzt aus Dillenburg

Gießen 1954

Aus dem Institut für tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Hochschule in Giessen
Direktor: Professor Dr. H. K e l l e r

Versuche zur bakteriellen Aromatisierung

von Rohwürsten.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Veterinär-Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Hochschule zu Gießen

vorgelegt von
Ernst M e y e r
Tierarzt aus Dillenburg

Gießen 1954

Mit Genehmigung der Veterinär-Medizinischen Fakultät der
Justus Liebig-Hochschule zu Gießen

Dekan: Professor Dr. H. K e l l e r

Berichterstatter: Professor Dr. H. K e l l e r

Tag der mündlichen Prüfung: 24. 7. 1954.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Schrifttum	2
1. Aromabakterien in der Milch	2
2. Aromabakterien in der Butter	4
3. Andere Aromabildner sowie Aromabakterien auf Fleischwaren	6
III. Eigene Untersuchungen	9
1. Material	9
2. Methodik	10
a) Herstellung und Beurteilung der Wurst	10
b) Voruntersuchungen mit dem verwendeten Pökelsalz	13
3. Prüfung der mit Aromabakterien versetzten Würste	13
a) nach 4 Wochen	13
b) nach 8 Wochen	15
c) nach 12 Wochen	16
4. Untersuchungen über die Ursachen der Aromabildung	19
5. Untersuchungen über die Aromabildung in Nährbouillon	25
6. Untersuchungen über die Beeinflussung des PH-Wertes von Nährbouillon mit Traubenzucker- und Glyzerinzusatz durch die verwendeten Aromabakterienstämme	27

7. Rückzüchtung der Aromabakterienstämme aus den
damit beimpften Würsten

28

IV. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

33

V. Schrifttumsverzeichnis

35

VI. Lebenslauf.

40

I. Einleitung

Seit vielen Jahren schon versucht man, den Geschmack von Rohwürsten durch bestimmte Zusätze zu verbessern. So werden zum Beispiel der Cervelatwurst Zucker und der Salami Rum oder Rotwein zugesetzt.

Auch bei der Herstellung von Butter spielen die sogenannten Reinkulturen zur Säuerung und zur geschmacklichen Verbesserung eine bedeutende Rolle.

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob eine Aromatisierung von Rohwürsten durch bakteriellen Zusatz möglich ist.

II. S c h r i f t t u m

1. Aromabakterien in der Milch.

Um die Jahrhundertwende wurden in der Milch aromabildende Mikroorganismen nachgewiesen und gezüchtet.

In Milch verschiedener Herkunft fand G r i m m (8) zweimal einen Bazillus, der die Fähigkeit besass, sterilisierter Milch ein starkes, fruchtätherartiges Aroma zu verleihen. Dieses Vermögen ging auch nach langer Weiterzüchtung nicht verloren. Man benutzte die Bakterien als Zusatz zu den sogenannten Reinkulturen, die zur künstlichen Säuerung des Rahmes verwendet wurden, um gleichzeitig eine Aromatisierung zu erreichen.

Schon früher wurden aromabildende Bakterien, so der Bazillus Nr.41 C o n n , der fruchtätherbildende Bazillus von W e i g m a n n und der aromatische Bazillus von K e i t h den Reinkulturen zugesetzt, aber man liess wieder davon ab, da sie sich nicht bewährten. G r i m m (8) nennt den von ihm gefundenen Bazillus, *Bazillus aromaticus lactis*. Er beschreibt ihn als ein langes Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung, das ein starkes Schleimbildungsvermögen auf festen und flüssigen Nährsubstraten besitzt und fakultativ aerob ist. Mit dem früher beschriebenen Bazillus No. 41 C o n n und *Bacillus butyri aromafaciens* K e i t h ist er nicht identisch, steht jedoch dem Bazillus Nr.41 C o n n in seinen physiologischen Eigenschaften nahe. Beide verursachen in Milch zunächst ein angenehmes, später käsiges Aroma. Das Wachstumsoptimum liegt bei 23° C, die Milch wird schwach gesäuert und nimmt nach einigen Wochen eine bräunliche Färbung an. Bei 82° C wird der *Bacillus aromaticus lactis* abgetötet, eine Abkühlung auf -22° C ist jedoch ohne schädlichen Einfluss.

B e i j e r i n c k , zitiert nach v a n d e r L e c k (21) liess Milch in dünnen Schichten durch Lab gerinnen und stellte fest, dass sich ein intensiv aromatischer Geruch verbreitete. Das von ihm *Bacillus aromaticus* genannte Bakterium produziert proteolytische Fermente und wurde oft in Milchstreukulturen, die in Petrischalen auf Molkengelatine angelegt waren, wahrgenommen. Durch die Milchsäurebakterien entstand ein saures Medium und dadurch waren die Lebensbedingungen für *Bacillus aromaticus* verbessert.

V a n d e r L e c k (21) findet mehrere Bakterien an der Aromabildung in der Milch beteiligt. In einem Anhäufungsversuch, durch Anlegen von Streukulturen mit 1 : 1000 verdünnter und unverdünnter Milch, erbrachte er den Nach-

weis, dass der *Bacillus aromaticus* immer, jedoch nur in geringer Zahl in der Milch vorkommt. Bei einer Kultivierung der Milch in dünnen Schichten (Temperatur 20° bis 23° C) war die Aromabildung stets vorhanden. Ungefähr hundert von ihm herausdifferenzierte Kolonien trennt er in zwei Gruppen durch Wachstum auf Molkengelatine. Die erste Gruppe wächst in schwach gelb gefärbten Kolonien und verflüssigt Gelatine schwach. Dies ist, nach seiner Meinung, *Bacillus aromaticus*, Stäbchen, die immer zu zweien sind mit stark rotierender Eigenbewegung. Der zweiten Gruppe gibt er den Namen *Bacillus acido aromaticus*. Es handelt sich um gelbweisse, Gelatine nicht verflüssigende Kolonien; die Stäbchen sind unbeweglich und säuern die Milch. Der *Bacillus aromaticus* hat morphologisch eine sehr grosse Ähnlichkeit mit *Escherichia coli* und *Aerobacter aerogenes*.

E i c h h o l z (4) findet gelegentlich einer Milchuntersuchung auf Bakteriengehalt in einer Milchprobe nach vier Tagen einen haselnussähnlichen, nach sechs Tagen einen deutlichen Erdbeerge- und -geschmack. Der Erdbeerge- und -geschmack hält bis zum 23. Tag vor. Der Erreger - *Bacterium fragi* - zeigt lebhaftige Eigenbewegung und ist polar begeißelt. Auf allen Nährböden produziert das Bakterium einen sehr angenehmen und intensiven Erdbeerge- und -geschmack, am stärksten auf Gelatine und in Bouillon. Das Wachstumsoptimum liegt bei 26° bis 29° C, das Optimum der Aromabildung bei 14° bis 18° C.

In der Bouillonkultur gehen Vermehrung und Esterproduktion nicht Hand in Hand. Vielmehr scheint diese erst einzutreten, wenn jene durch Nahrungsmangel zu einem gewissen Grad gehemmt ist.

Nach neun Monate langer Züchtung auf künstlichen Nährböden hat sich die Eigenschaft der Aromabildung ungeschwächt erhalten.

H a r r i s o n (11) findet bei einer Untersuchung der Milch auf Gas produzierende Bakterien solche, die ausser Gas einen Geruch hervorrufen, der von Käsebereitern als "gassy" bezeichnet wird. Andere Organismen, die zu dieser Gruppe gehören, rufen einen "cowy" Geruch hervor.

G r u b e r (10) züchtet aus Milch ein Bakterium, das zur Gruppe *Pseudomonas* gehört und nennt es *Pseudomonas fragariae* II. Es zeigt keine Fluoreszenz, verflüssigt Gelatine und bildet einen angenehmen Erdbeerge- und -geschmack. In einer Milchprobe, die stark kratzend, ranzig schmeckt, isoliert F e t t i c k (5) das Bakterium *Pseudomonas fragaroidea* H u b (15) im Verein mit reichlich vorhandenem "*Bacteria fluorescentia*". Die Erdbeerbakterien sollen von verfüttertem Maisstroh und Heu, die Fluoreszenten aus dem Brunnenwasser stammen.

W e i g m a n n und W o l f f (31) machen die interessante Feststellung, dass *Bacterium fluorescens*, das für sich allein einen unangenehmen esterigen Geruch verursacht, mit *Bacillus mycoides*, ebenso wie mit *Streptococcus lactis* ein angenehmes Aroma und mit *Bacillus megatherium*, *Bacillus mycoides* und Milchsäurebakterien ein käsiges Aroma bilden.

O m e l i a n s k y (24) findet ein dem *Bacillus praepollens* M a a s s e n (22) nahestehendes *Bacterium esteroaromaticum*. Es ist sporenfrei, unbeweglich, verflüssigt Gelatine, peptonisiert Milch und verleiht ihr ein an Äpfel erinnerndes Aroma. Ein anderes farbloses, Gelatine verflüssigendes, sporenfreies Stäbchen koaguliert die Milch labartig unter Erzeugung von Erdbeeraroma.

Der *Bacillus praepollens* M a a s s e n (22), der unbeweglich und sporenlos ist, produziert in Milch ein sehr angenehmes und reines Aroma, Es übertrifft qualitativ und quantitativ das Aroma der ebenfalls von M a a s s e n (22) beschriebenen Organismen: *Bacterium esterificans* Stralauense, *Bacillus esterificans* und *Bacillus esterificans fluorescens*.

2. Aromabakterien in der Butter.

S e w e r i n (28) isoliert aus Sauerrahm ein Bakterium, das einen angenehmen Obstgeruch entwickelt. Auf Fleischwasserpeptonagar zeigt es ein charakteristisches Wachstum. Der Geruch ist hier unangenehm, teilweise ammoniakalisch. Unter dem Mikroskop sind kurze dicke Stäbchen zu sehen, die lebhaft beweglich sind und keine Endosporen bilden. In Bouillon erzeugt das Bakterium in den ersten Tagen einen angenehmen Obstgeruch. Wesentlich für die Aromabildung ist die Temperatur. Bei 30° C erfolgt keine Aromabildung mehr. Ungefähr nach fünf Tagen wird der Geruch unangenehm, faulig - ammoniakalisch.

In Milch bildet diese Spezies nur Aroma bei Anwesenheit von Milchsäurebakterien. Ungesalzene Butter, deren Oberfläche stark mit Salz beschüttet ist, zeigt bei einer Aufbewahrung in Gläsern bei Zimmertemperatur nach drei bis vier Wochen ein angenehmes Obstaroma. Später wird der Geruch schwächer. Die Geruchsentwicklung liegt vor allem an der Oberfläche. Im Innern der Butter ist gleichfalls das Aroma vorhanden, jedoch fehlt der eigentümliche Obstgeruch. Die Haltbarkeit der Butter wird nicht beeinflusst.

Die Fähigkeiten der Bakterien, Aroma zu bilden, ist nicht konstant. Der *Bacillus* No. 41 C o n n , *Bacterium esterificans* Stralauense M a a s s e n und

der *Bacillus aromaticus lactis* G r i m m verlieren die Eigenschaft der Aromabildung sehr bald. Jedoch ist dieser Funktionsverlust mit keinen morphologischen oder physiologischen Veränderungen verbunden.

Das *Bacterium aromaticum butyri*, wie S e w e r i n den von ihm gefundenen Aromabildner nennt, steht dem *Bacterium aromaticum lactis*, dem *Bacterium fragi* E i c h h o l z sowie dem *Bacterium esterificans* Stralauense sehr nahe.

R e i n m a n n (27) bemerkt bei seinen Untersuchungen über die Ursache des Ranzigwerdens der Butter einen coliähnlichen Bazillus, der in der Butter einen Erdbeergeschmack hervorruft.

Der *Bacillus odoratus* n. sp. wird von M a t z u s c h i t a (23) aus Butter isoliert. Es handelt sich um grosse, zuweilen kugelförmige Stäbchen mit abgerundeten Enden, die meist zu zweien beieinander liegen und lebhaft Eigenbewegungen zeigen. Das Wachstum auf der Gelatineplatte hat grosse Ähnlichkeit mit dem *Bacillus subtilis*. Auf Kartoffeln bildet sich ein Geruch nach menschlichem Sperma.

H u ß (14) weist nach, dass der *Bacillus esterificans* M a a s s e n nach einjähriger Aufbewahrung auf Agar immer noch das an Ananas erinnernde Aroma produziert. Während M a a s s e n den Bazillus in einer faulenden Lackmuspflösung fand, isolierte ihn H u ß aus einer sogenannten "staffigenen Butter". Ausserdem gelang es ihm aber auch, den Bazillus aus der Laboratoriumsluft und aus einer Stallung des Kieler Tierseucheninstitutes aufzufangen. Das Wachstumsoptimum des beweglichen und sporenbildenden Bazillus liegt bei 35° bis 37° C.

Milchkulturen von *Bacillus esterificans* M a a s s e n besitzen einen schönen Ananasgeruch. Als Butteraromabakterium war er jedoch nicht brauchbar.

B e c k (1) beschreibt den *Micrococcus esterificans*, dessen Kolonien nach drei bis vier Tagen Wachstum einen deutlichen fruchtätherartigen Geruch bilden und äusserlich denjenigen des *Staphylococcus pyogenes aureus* sehr ähnlich sind. Eine mit einer Bouillonkultur des Coccus bereite Butter hält sich etwa fünf Tage länger als gewöhnliche Butter aus derselben Sahne. Der *Micrococcus esterificans* hat bei zehn Jahre langer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden sein esterbildendes Vermögen nur in geringem Grade eingebüsst.

H u s s (15) züchtet aus einer Butyratorbutter auf Gelatineplatten - Kulturen das *Bacterium Pseudomonas fragaroidea* n.sp., das einen intensiven Erdbeergeschmack entwickelt. Charakteristisch erscheint ihm das Auftreten dieses Geruches in jungen Kulturen. Das Bakterium ist lebhaft beweglich, zeigt keine

Sporenbildung, ist grampositiv, verflüssigt Gelatine und wächst am kräftigsten bei 20° bis 29° C.

K u r o n o (19) findet im sogenannten "Takaawa - Stadium" der "Moromi - Fermentation" drei neue Varietäten des *Bacillus butyricus*: den *Bacillus butyricus aromaticus moromi* I, den *Bacillus butyricus aromaticus moromi* II und den *Bacillus butyricus rosens moromi*. Die beiden ersten erzeugen den eigenartigen Geruch von Buttersäureestern bei Gegenwart von Äthylalkohol.

Als Aromabildner im Säurewecker sieht F o l d a (6) den *Streptococcus citrovorus*, den *Streptococcus paracitrovorus*, bzw. den *Betacoccus cremoris*, an. Die Aromabildung in der Butter ist abhängig vom Diazethyl, dessen Muttersubstanz das Azethylmethylkarbinol ist. Nach Ansicht von Arturi I Virtanen, Pekka Kontio und Torsten ist Azethylmethylkarbinol nur aus Zitronensäure zu bilden. Ausser Zitronensäure muss die Gärlösung jedoch auch noch Glukose enthalten. Aerogenesbakterien sind in der Lage, aus Zucker Azethylmethylkarbinol zu bilden. Die Künstliche Aromatisierung der Butter durch Beigabe von Diazethyl ist abzulehnen, weil dadurch eine Verschlechterung eintritt.

Die Aromabildner arbeiten im Säurewecker bei einer Temperatur von 20° bis 23° C am günstigsten.

3. Andere Aromabildner sowie Aromabakterien auf Fleischwaren.

L. H. und E. P a m m e l (25) finden im Käse einen "*Bacillus aromaticus*", der sich in der Kultur bis zu einem Jahr hält. Es handelt sich um einen kleinen Erreger mit abgerundeten Enden, den man zunächst für unbeweglich hielt. In frischen Kulturen wurden jedoch Bewegungen beobachtet. Die Bakterien liegen entweder einzeln oder zu zweien oder dreien nebeneinander und bilden keine Sporen. Bei 70° C werden sie nach zehn Minuten zerstört. Auf Agar erfolgt bei Zimmertemperatur das beste Wachstum. In frischen Kulturen ist ein angenehmer Buttergeruch wahrnehmbar, der später strenger und schliesslich käsig wird.

In Bouillon entsteht bei längerem Wachstum der typische Geruch des Limburger Käse und auf Blutserum bilden sie einen angenehmen fruchtartigen Geruch.

Bei einer Untersuchung von Futterrüben bringt G r u b e r (9) eine Steckrübe ungewaschen in steriles Wasser und überlässt sie bei Zimmertemperatur sich

selbst. Nach vierzehn Tagen nimmt er einen jauchig-urinartigen Geruch wahr. Nach Anlegen von Kulturen auf Gelatineplatten bilden sich eigentümliche Kolonien, beinahe in Reinkultur. Die ursprünglichen Kolonien werden von einem Kranz kleiner weißer Pünktchen umgeben. Beim Öffnen der Platten ist ein deutlicher Geruch nach Erdbeeren wahrnehmbar, der mit dem Altern der Kultur einem urinartigen ammoniakalischen Geruch weicht. Das Bakterium ist fluoreszierend und verflüssigt Gelatine nicht, im Gegensatz zu dem von Gruber aus der Milch gezüchteten *Pseudomonas fragariae* II. Es besitzt ein bis neun polare Geißeln und bildet keine Sporen. Sterile Butter, gesalzen oder ungesalzen, die mit *Pseudomonas fragariae* geimpft wurde, besitzt nach vierzehn Tagen einen angenehmen aromatischen Geruch, der später an Erdbeeren erinnert. Ein ammoniakalischer Geruch konnte selbst nach Wochen nicht festgestellt werden.

S u m i y o s h i (30) beschreibt den *Bacillus aromaticus aerogenes caviae* n. sp., den er im Meerschweinchenkot findet und auch im Darmkanal nachweist. Der Erreger erzeugt einen intensiv aromatischen Geruch, der in den angelegten Kulturen lange anhält. Geruchlos gewordene Kulturen werden durch Verfütterung an Meerschweinchen wieder aromatisch. Der Bazillus ist unbeweglich, gramnegativ und streng aerob. Die Entstehung des Aromas ist unbekannt.

Bei der Untersuchung von Pökellaken und Heringslaken auf ihren Keimgehalt isoliert H e i n o (12) gramnegative Stäbchen, die in der Lage sind, sowohl auf salzhaltigen als auch auf salzfreien Nährböden Aroma zu bilden.

G l a g e (7) sagt, dass die Aromabakterien zu den gemeinsten Fleischbakterien gehören. Die Weiterzüchtung dieser Bakterien in Reinkulturen sei möglich, da die Beimengung sonstiger Keime nur minimal sei. Er findet die Aromabildner auf saftigen, recht feuchten Flächen von gekühltem Frischfleisch. Bei höheren Temperaturen werden die Aromabakterien von den Fäulnisbakterien überwuchert.

Die Kolonien zeigen ein charakteristisches Aussehen. Sie sehen tautropfenartig aus und sind stecknadelkopf- linsengross. Durch Zusammenfliessen dieser Tropfen entstehen 2 bis 3 mm dicke Beläge, die einen feinen aromatischen esterartigen Geruch absondern. Die Kolonien sowie die Beläge haben eine mehr oder weniger gelbbraune Farbe. Unterhalb der Beläge ist das Fleisch von normaler Beschaffenheit. Mäuse und Ratten, die mit solchem, von Aromabildnern beschlagenen Fleisch gefüttert wurden, verendeten nicht.

Die Aromabakterien unterscheiden sich wesentlich von den Fäulnisbakterien

durch das Fehlen der Peptonisierung. Angelegte Kulturen werden bei 8° bis 10° C gezüchtet und wachsen innerhalb von 8 bis 10 Stunden. Die Keime sind gramnegativ, liegen bisweilen zu mehreren beieinander, bilden keine Sporen, sind nur in jungen Kulturen beweglich und haben ein ovales bis stäbchenförmiges Aussehen. Das optimale Wachstum liegt bei 10° bis 12° C. Nach vierzehntägiger Aufbewahrung bei -5° C wachsen sie nach dem Auftauen weiter. In Stickkulturen wachsen die aeroben Bakterien nur bis zu 1 cm unterhalb der Oberfläche.

K o h n l e (18) untersuchte 49 Wurstproben, welche die Handelsbezeichnung "Rohwurst nach Braunschweiger Art" haben, auf ihren Gehalt an Aromabakterien. Die Züchtung erfolgte bei einer Temperatur von 12° C, da bei höheren Temperaturen die Aromabakterien von Bazillen der Subtilis-Gruppe und Kugelbakterien der Micrococccen-Gruppe überwuchert werden. Auf den bei 12° C aufbewahrten Platten trat der aromatische Geruch deutlich hervor. Er konnte jedoch nur bis zur zweiten oder dritten Subkultur beobachtet werden. Bei der Differenzierung ergab sich, dass alle gefundenen Aromabildner in die Gruppe der Enterobacteriaceae gehören und zwar zu den Genera: *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aerobacter cloacae* und *Escherichia*.

Die Differenzierung erfolgte nach B e r g e y (2).

III. E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n

Im Rahmen dieser Arbeit soll festgestellt werden, ob es möglich ist, eine geschmackliche und geruchliche Verbesserung von Rohwürsten zu erzielen, dadurch, dass den Würsten bei der Herstellung Aromabakterien zugesetzt werden.

1.) Material

Es sind für die vorliegende Arbeit zehn Stämme der von K o h n l e aus Rohwürsten nach Braunschweiger Art von einwandfreier Beschaffenheit herausgezüchteten Aromabakterien ausgesucht worden. Es handelt sich um solche, die eine besonders gute Aromabildung erzielen und zwar um zwei Alcaligenes - Stämme, einen Pseudomonas - Stamm, zwei Achromobacter - Stämme und fünf Escherichia - Stämme. Die beiden Achromobacter - Stämme verflüssigen Gelatine, davon der eine jedoch erst nach zehn Tagen. Alle Stämme bilden NH_3 .

Zur besseren Übersicht über die verwendeten Stämme ist nachstehende Tabelle nach den Angaben von K o h n l e zusammengestellt. (Seite 10a)

Die Versuchswürste wurden von einem erfahrenen Fleischer aus frisch geschlachtetem Material gewerbeüblich hergestellt.

Das Wurstbrät besteht aus:

1. Schweinefleisch (Schinken)	1 700 gr
2. Rindfleisch (Keule)	1 700 gr
3. Schweinespeck (Kamm)	1 600 gr
	5 000 gr

An Gewürzen werden zugesetzt:

1.	140 gr Kochsalz	=	2,8 %
2.	13 gr Pfeffer	=	0,26%
3.	1 gr Pökelsalz	=	0,02%

Das Pökelsalz führt die Handelsbezeichnung "Rheingold" und wird von den Moguntia - Werken in Mainz hergestellt.

Als Därme werden Rinder - Mitteldärme verwendet.

2.) Methodik

a) Herstellung und Beurteilung der Wurst

Zunächst werden die zehn Stämme der Aromabakterien steril auf Bouillon überimpft und vier Tage bei 12° C gezüchtet. In der Bouillon ist eine starke Trübung festzustellen und bei allen zehn Kulturen ist deutliche Aromabildung wahrzunehmen.

Es werden nunmehr die Würste hergestellt und zwar zehn Versuchswürste, denen jeder eine Bouillonkultur (5 ccm) zugesetzt werden, sowie fünf Kontrollwürste ohne Bakterienzusatz. Das Gewicht der Versuchswürste beträgt je ca. 375 gr und das der Kontrollwürste je ca. 250 gr. Die Würste sind nummeriert von 29 bis 38, die Kontrollwürste von K₁ bis K₅.

Nr.der Wurst	Nr.des Stammes	Gelatine	Glukose	Laktose	Indol	Methyl- rot-Re- aktion	V.P.R.	H ₂ S- Bil- dung	Mannit	Adoni
-----------------	-------------------	----------	---------	---------	-------	------------------------------	--------	-----------------------------------	--------	-------

29	20c	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
30	21c	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	32c	-	+	-	-	+	-	-	-	-
32	13c ₂	+	+	+	-	+	-	-	-	-
33	30c	(+)	+	-	-	+	-	-	-	-
34	35c	-	+	+	-	+	+	-	+	+
35	24c ₂	-	+	+	-	+	+	-	+	+
36	11c	-	+	+	-	+	+	-	+	+
37	29c ₂	-	+	+	-	+	+	-	+	+
38	25c	-	+	+	-	+	-	-	+	.(+)

Galizin	Saccharose	Aeskulin	NH ₃ -Bildung	Beweglichkeit	Farbstoffbildg.	KNO ₃ -Spaltung	Wachstum a. Agar mit 5% NaCl	Wachstum a. Agar mit 10% NaCl	Aroma
-	-	-	+	+	-	-	-	-	Fruchtsäure
-	-	-	+	+	-	+	(+)	-	Fruchtsäure
-	-	-	+	+	+	-	(+)	-	Fruchtsäure
-	+	+	+	+	+	+	+	-	Erdbeer
-	-	-	+	+	-	-	+	-	Fruchtsäure
+	+	+	+	-	-	-	(+)	-	Fruchtsäure
+	+	+	+	-	-	+	-	-	Fruchtsäure
+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	Edelf. d. Trauben
+	+	+	+	-	-	-	-	-	Fruchtsäure
+	+	+	+	+	-	+	(+)	-	Fruchtsäure

Nachstehend eine Aufstellung über die Verteilung der Bakterien auf die Versuchswürste:

G e n u s	Nr. der Wurst	Nr. des Stammes
Alcaligenes	29	20 c
	30	21 c
Pseudomonas	31	32 c
	32	13 c ₂
Achromobacter	33	30 c
	34	35 c
	35	24 c ₂
Escherichia	36	11 c
	37	29 c ₂
	38	25 c

Zur Vereinfachung werden in den nachfolgenden Ausführungen nur die Nummern der Würste angegeben und damit auch die einzelnen Stämme bezeichnet.

Die Füllung der Würste erfolgt mit der Hand. Getrocknet werden die Rohwürste in einem Raum, der gut durchlüftet ist bei einer Temperatur von 12° bis 13° C während eines Zeitraumes von 17 Tagen.

Um die nötige Festigkeit des Wurstgutes zu erzielen, werden die Versuchswürste während der Trocknungszeit nochmals in der Mitte unterbunden. Geräuchert werden die Würste während dreimal 24 Stunden bei 13° bis 15° C. Zur Räucherung wird Buchenholzsägemehl verwendet.

Die Untersuchung der fertiggestellten Würste findet nach folgendem Schema statt:

Grobsinnliche Untersuchungen:

Prüfung der Konsistenz durch Betasten der Würste

Beurteilung der Schnittfläche auf Farbe

Prüfung von Geruch und Geschmack

Chemisch - physikalische Untersuchungen:

Bestimmung des PH - Wertes

NH_3 - Bildung

H_2S - Bildung

Bakteriologische Untersuchungen:

Verhalten der Aromabakterien auf verschiedenen Nährböden

Rückzüchtung der Aromabakterien aus den Würsten

Züchtung in Gelatinestichkulturen

Das Wachstum der aufgegangenen Kolonien wird wie folgt beurteilt:

bis vier Kolonien	=	schwaches Wachstum	=	+
bis zwölf Kolonien	=	mittelgradiges Wachstum	=	++
über zwölf Kolonien	=	starkes Wachstum	=	+++

Zeichenerklärung für die Aromabildung:

schwaches Aroma	=	+
mittleres Aroma	=	++
starkes Aroma	=	+++

b.) Voruntersuchung mit dem verwendeten Pökelsalz

Es galt festzustellen, ob in dem Pökelsalz "Rheingold" der Moguntia - Werke in Mainz ein Nitrit - Salz enthalten ist. Die Untersuchung wurde mittels "Nitrin Merck" wie folgt vorgenommen.

Es wurden ca. 2 bis 3 gr NaCl , NaNO_2 und das zu untersuchende Pökelsalz je auf eine Glasplatte gebracht und mit Aqua dest. angefeuchtetem Filtrierpapier so bedeckt, dass das Filtrierpapier in innige Berührung mit dem Salz kam. Nach zwei bis drei Minuten wurden auf jedes Filtrierpapier ein Tropfen einer 1 : 4 verdünnten Schwefelsäure mit dem spezifischen Gewicht 1,82 sowie ein Tropfen "Nitrin Merck" zugesetzt. Bei Vorhandensein von Nitrit entsteht eine vergehende Violettfärbung.

Im Pökelsalz "Rheingold" war kein Nitrit nachweisbar. Die Kontrolle mit NaNO_2 verlief dagegen positiv.

3.) Prüfung der mit Aromabakterien versetzten Würste.

a) nach 4 Wochen

Die erste Überprüfung der Würste erfolgt vier Wochen nach der Herstellung. Es sollen die Konsistenz, die Farbe der Schnittfläche sowie Geruch und Geschmack geprüft werden. Weiterhin ist der PH - Wert, die NH_3 - Bildung und die H_2S - Bildung festzustellen.

Die Geschmacks- und Geruchsprüfung wird durch eine Dame und fünf Herren vorgenommen. Der PH - Wert wird mit dem PH - Meter 22 der Firma K. Hillerkus in Krefeld gemessen. Die NH_3 - Bildung wird mittels der Eber'schen Probe (Originalmethode) und die Bildung von H_2S durch die Bleiazetatprobe untersucht.

E r g e b n i s :

Die äusserliche Besichtigung ergibt, dass alle Würste eine trockene, braunrote, am Wurstgut eng anliegende Hülle haben. Irgendwelche Beläge sind nicht festzustellen. Die Schnittfläche ist gut leuchtend, rosarot, schnittfest und zusammenhängend. Geruch und Geschmack der Versuchswürste sind besser als bei den Kontrollwürsten (bei der ersten Überprüfung wurden nur zwei Kontrollwürste

angeschnitten).

Als die aromatisch besten Würste ergeben sich die Nummern 32, 33 und 38. Ein gutes Aroma haben auch die Würste mit den Nummern 31, 36 und 37.

Der PH - Wert liegt bei Nr. 37 bei 6,65 und bei Nr. 33 bei 6,05. Durchschnittlicher PH - Wert bei 6,35.

Der Durchschnitts - PH - Wert der Kontrollwürste ist 6,49. (K_4 = PH 6,59, die anderen Würste = PH 6,4) Die Proben auf NH_3 - und H_2S - Bildung sind negativ.

Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Nr. der Wurst	Konsistenz	Wursthülle	Farbe der Schnittfläche	Geruch
29	fest	trocken, braunrot, am Wurstgut glatt anliegend, keine Beläge	gut leuchtend, rosarot bis gut gerötet	spez. Eigen- geruch nach Räucherung
30	fest	dto.	dto.	aromatisch, Räucherung
31	fest	dto.	dto.	aromatisch
32	fest	dto.	dto.	aromatisch
33	fest	dto.	dto.	aromatisch, kräftig
34	fest	dto.	dto.	aromatisch
35	fest	dto.	dto.	aromatisch
36	fest	dto.	dto.	aromatisch
37	fest	dto.	dto.	aromatisch
38	fest	dto.	dto.	aromatisch, kräftig
Kontrollen:				
K ₁	fest	dto.	dto.	aromatisch
K ₂	fest	dto.	dto.	aromatisch
K ₃				
K ₄				
K ₅				

Geschmack	Wertg.	PH-Wert	NH ₃ -Bildung	H ₂ S-Bildung
aromatisch, etwas salzig	+	6,45	-	-
aromatisch	+	6,39	-	-
aromatisch	++	6,49	-	-
sehr gut, aromatisch, vollmundig	+++	6,25	-	-
sehr gut, aromatisch	+++	6,05	-	-
aromatisch, nicht so voll	+	6,3	-	-
aromatisch	+	6,45	-	-
aromatisch	++	6,1	-	-
aromatisch	++	6,65	-	-
sehr gut, aromatisch, vollmundig	+++	6,6	-	-
aromatisch, jedoch fader als Versuchswürste	+	6,39	-	-
dto.	+	6,4	-	-
		6,39	-	-
		6,59	-	-
		6,4	-	-

b) nach acht Wochen

Acht Wochen nach der Herstellung der Würste wird die zweite Prüfung vorgenommen. Sie erfolgt nach dem gleichen Untersuchungsschema wie die erste Überprüfung.

Die Geruchs- und Geschmacksbeurteilung wird von vier männlichen Prüfern vorgenommen. Zum Vergleich werden alle fünf Kontrollwürste herangezogen.

E r g e b n i s :

Bei der äusseren Besichtigung ist festzustellen, dass die Hüllen der Würste Nr. 31, 36 und K_4 faltig sind, während alle anderen am Wurstgut fest anliegen.

Die Schnittflächen der Wurstenden zeigen bei Nr. 31, 36 und K_4 graue Ränder, die jedoch nach öfterem Nachschneiden verschwinden und wieder eine gut gerötete Schnittfläche, wie bei allen anderen Würsten, zeigen.

Das Grauwerden ist vermutlich auf die Füllung mit der Hand zurückzuführen, da hierbei die Festigkeit wie bei der maschinellen Herstellung nicht erzielt werden kann.

Als aromatisch beste Würste sind die Nr.33, 34, 37 und 38 zu bewerten.

Die PH - Wert - Bestimmung zeigt, dass eine Säuerung aller Würste eingetreten ist. Der Durchschnitts - PH - Wert der Versuchswürste liegt bei PH 6,325 und der der Kontrollwürste bei PH 6,35.

Bemerkenswert erscheint, dass die PH - Werte der Nr.32 und 33 gegenüber der ersten Untersuchung angestiegen sind.

Die Untersuchung auf NH_3 und H_2S - Bildung verläuft negativ.

Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle übersichtlich zusammengestellt.
(Seite 17)

c) nach zwölf Wochen

Nach zwölf Wochen erfolgt die letzte Beurteilung der Würste. Geruch und Geschmack werden von einem weiblichen und männlichen Prüfern untersucht.

E r g e b n i s :

Die Hüllen der Würste Nr.30, 31, 36, K_3 und K_4 sind faltig, alle anderen zeigen normale Beschaffenheit. An den Enden sind nach Anschneiden bei diesen Würsten graue Ränder festzustellen, die aber nach weiterem Anschneiden in der Mitte einer gut geröteten Schnittfläche weichen.

Die am besten zu beurteilenden Würste sind die Nr.33, 34, 37 und 38. NH_3 und H_2S werden nicht gebildet.

Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle übersichtlich zusammengestellt (Seite 18).

Nr.d. Wurst	Konsistenz	Wursthülle	Farbe der Schnittfläche	Geruch
29	fest	trocken, keine Be- läge, braunrot, glatt anliegend	gut gerötet	aromatisch
30	fest	dto.	gut gerötet	aromatisch n.Räucherung
31	weich	leicht faltig	grauer Rand verschw. bei Nachschneiden	leicht aromatisch
32	fest	trocken, keine Be- läge, braunrot, glatt anliegend	rosarot	aromatisch
33	fest	dto.	rot leuchtend	sehr kräftig aromatisch
34	fest	dto.	rot leuchtend	sehr kräftig aromatisch
35	fest	dto.	rosarot	aromatisch, wenig.kräftig
36	weich	leicht faltig	grauer Rand verschw. bei Nachschneiden	leicht aromatisch
37	fest	trocken, keine Be- läge, braunrot, glatt anliegend	rot leuchtend	sehr kräftig aromatisch
38	fest	dto.	rot leuchtend	sehr kräftig aromatisch
Kontroll.:				
K ₁	fest	dto.	gut gerötet	aromatisch
K ₂	fest	dto.	gut gerötet	voll aromatisch
K ₃	fest	dto.	gut gerötet	aromatisch
K ₄	weich	faltig	grauer Rand, verschw. bei Nachschneiden	leicht aromatisch
K ₅	fest	trocken, keine Be- läge, braunrot, glatt anliegend	rosarot	aromatisch

Geschmack	Wertg.	PH-Wert	NH ₃ - Bildung	H ₂ S - Bildung
aromatisch	+	6,5	-	-
aromatisch	+	6,4	-	-
leicht aromatisch	+	6,3	-	-
voll aromatisch	++	6,32	-	-
sehr kräftig aromatisch	+++	6,49	-	-
sehr kräftig aromatisch, vollmundig	+++	6,09	-	-
voll aromatisch	++	6,15	-	-
leicht aromatisch	+	6,15	-	-
sehr gut aromatisch	+++	6,31	-	-
sehr gut, aroma- tisch vollmundig	+++	6,29	-	-
aromatisch	+	6,29	-	-
voll aromatisch	++	6,3	-	-
aromatisch	+	6,41	-	-
leicht aromatisch	+	6,4	-	-
voll aromatisch	++	6,35	-	-



Nr. der Wurst	Konsistenz	Wursthülle	Farbe der Schnittfläche	Geruch
29	fest	trocken, keine Beläge braunrot, glatt anliegend	rosarot	voll aromatis
30	weich	leicht faltig	grauer Rand, verschw. bei Nachschneiden	leicht arom
31	weich	leicht faltig	dto.	leicht arom
32	fest	trocken, keine Beläge, braunrot, glatt anliegend	rosarot	aromatisch
33	fest	dto.	rot leuchtend	sehr kräftig aromatisch
34	fest	dto.	rot leuchtend	dto.
35	fest	dto.	rosarot	aromatisch
36	weich	faltig	grauer Rand, verschw. bei Nachschneiden	leicht aromatisch
37	fest	trocken, keine Beläge, braunrot, glatt anliegend	rot leuchtend	sehr kräftig aromatisch
38	fest	dto.	rot leuchtend	dto.
Kontrollen:				
K ₁	fest	dto.	rot	aromatisch
K ₂	fest	dto.	rosarot	kräftig arom
K ₃	weich	faltig	grauer Rand, verschw. bei Nachschneiden	leicht arom
K ₄	weich	faltig	dto.	leicht arom
K ₅	fest	trocken, keine Beläge, braunrot, glatt anliegend	rosarot	kräftig arom

	Geschmack	Wertg.	NH ₃ -Bildung	H ₂ S-Bildung
isch	voll aromatisch	++	-	-
itisch	leicht aromatisch	+	-	-
itisch	leicht aromatisch	+	-	-
	aromatisch	++	-	-
g	sehr gut, aromatisch vollmundig	+++	-	-
	dto.	+++	-	-
	voll aromatisch	++	-	-
	leicht aromatisch	+	-	-
g	sehr gut, aromatisch vollmundig	+++	-	-
	dto.	+++	-	-
	aromatisch	+	-	-
matisch	voll aromatisch	++	-	-
atisch	leicht aromatisch	+	-	-
atisch	leicht aromatisch	+	-	-
matisch	voll aromatisch	++	-	-

4.) Untersuchungen über die Ursachen der Aromabildung

Es steht fest, dass viele Aromabakterien schon in der zweiten oder dritten Subkultur ihr Aromabildungsvermögen verloren haben (S e w e r i n , K o h n l e u. a.). Andere Bakterien sind dagegen in der Lage, auf lange Zeit hinaus ihr Aroma weiterzubilden (G r i m m , H u s s).

S e w e r i n behauptet, dass die Aromabakterien aus den Stoffwechselprodukten der Begleitbakterien ihre duftenden, esterartigen Stoffe bilden.

Es sollte untersucht werden, wie sich Reinkulturen von Aromabakterien, welche durch Weiterzüchtung auf Agarplatten die Fähigkeit der Aromabildung verloren haben, auf Nährböden, denen Fett bzw. Traubenzucker zugesetzt ist, verhalten. Zu diesem Zweck wurden die zehn zur Aromatisierung der Wurst verwendeten Bakterienstämme aus den Reinkulturen auf Agar-, Traubenzuckeragar- und Nilblausulfatbutteragarplatten steril überimpft. Der Traubenzuckeragar enthielt 3 % Traubenzucker. Auf den Nilblausulfatbutteragarplatten interessierte vor allem, ob die Bakterien in der Lage sind, Fette zu spalten.

Die Beurteilung erfolgte nach 72 - stündigem Wachstum bei 12° C.

E r g e b n i s :

Wachstum ist nach 72 Stunden auf allen Platten erfolgt. Am schlechtesten sind die Stämme 29, 30 und 31 auf den Traubenzuckeragarplatten gewachsen.

Die Aromabildung ist auf den Agarplatten bei manchen Stämmen überhaupt nicht, bei anderen schwach bis mittelmässig vorhanden. An Aromen werden Fruchtsäure-ester und "Edelfäule der Trauben" in Übereinstimmung mit K o h n l e festgestellt. Auf den Traubenzuckeragarplatten ist eine auffallende Aromabildung nach Sauermilch wahrzunehmen. Es muss angenommen werden, dass Aromabakterien in der Lage sind, ein Molekül Traubenzucker in zwei Moleküle Milchsäure zu spalten. Eine besonders kräftige Aromabildung ist bei den Stämmen 33, 37 und 38 zu bemerken.

Das Wachstum auf den Nilblausulfatbutteragarplatten ist mittelmässig bis stark

Die Überimpften Stämme sind alle in der Lage, Fett zu spalten. Die Aromabildung ist im Vergleich zu den beiden anderen Platten besser, am deutlichsten tritt sie bei den Stämmen 35, 36, 37 und 38 hervor. Bei letzterem entwickelt sich ein sehr angenehmes Erdbeeraroma.

Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Nr. der Wurst	A g a r		Wertg.	T r a u b e n z u c k e	
	Wachstum	Aroma		Wachstum	Aroma
29	+++	nicht aromatisch	-	+	Fruchtsäure
30	+++	nicht aromatisch	-	+	Fruchtsäure
31	++	Fruchtsäureester	++	+	Sauermilch
32	+++	nicht aromatisch	-	++	Sauermilch
33	+++	nicht aromatisch	-	+	Sauermilch
34	++	nicht aromatisch	-	+	schwach Fruchtsäure
35	++	Fruchtsäureester	++	++	schwach na Sauermilch Malzgeruch
36	++	Edelfäule der Trauben	++	++	Sauermilch
37	+++	Fruchtsäureester	+	++	Sauermilch
38	+++	Fruchtsäureester	++	++	Sauermilch

g a r		N i l b l a u s u l f a t b u t t e r a g a r			
Wertg.		Wachstum	Aroma	Fettspaltung	Wertg.

er	+	+++	Fruchtsäureester	+	+
er	+	+++	Fruchtsäureester	+	+
	++	++	Fruchtsäureester	+	++
	+	+++	Fruchtsäureester	+	+
	+++	++	Fruchtsäureester	+	++
	-				
	+	++	Fruchtsäureester	+	++
er					
	+	++	Fruchtsäureester	+	+++
	+	++	Fruchtsäureester	+	+++
	+++	++	sauer, würzig, scharf, Frucht- säureester	+	+++
	+++	+++	Erdbeer	+	+++

In einer weiteren Versuchsreihe werden die bekannten Stämme auf 3 %ige Traubenzuckeragarplatten, Nilblausulfatbutteragarplatten und Nilblausulfatbutteragarplatten + 3 % Traubenzucker steril überimpft.

Nach 24-stündigem Wachstum bei 12° C erfolgt die erste und nach 72 Stunden die zweite Beurteilung des aufgetretenen Aromas.

E r g e b n i s :

Das Wachstum ist nach 24 Stunden noch allgemein schwach. Auf den Traubenzuckeragarplatten ist wiederum der Geruch nach Sauermilch wahrzunehmen. Nr.35 hat ein volles Butteraroma entwickelt.

Die Aromaentwicklung auf den Nilblausulfatbutteragarplatten ist etwas besser als bei den Traubenzuckerplatten, aber noch nicht vollkommen. Nr.38 hat ein angenehmes Erdbeeraroma gebildet.

Die Nilblausulfatbutteragarplatten + 3 % Traubenzucker zeigen neben dem Fruchtsäureesteraroma gleichzeitig den Sauermilchgeruch. Die beste Aromabildung ist bei Nr.37 erfolgt.

Nach 72 Stunden herrscht auf allen Platten starkes Wachstum und die Aromabildung wird deutlicher. Der Sauermilchgeruch auf den Traubenzuckeragarplatten ist intensiver geworden. Nr.36 entwickelt einen Malzgeruch, Nr.35 und 36 sind die besten Aromabildner.

Nr.33 bildet auf dem Nilblausulfatbutteragar einen leicht käsigen Geruch. Die Nr.29, 30, 36 und 38 zeigen ein volles, angenehmes, blumiges Fruchtaroma.

Die Aromaentwicklung nach 72 Stunden auf den Nilblausulfatbutteragarplatten mit 3 % Traubenzucker ist ähnlich wie beim Wachstum nach 24 Stunden, nur noch etwas charakteristischer. Nr.30 produziert einen leicht käsigen, Nr.33 einen malzartigen Geruch.

Zur Feststellung des Aromas ist von den verwendeten drei Agarplatten die Nilblausulfatbutteragarplatte vorzuziehen. Die besten Aromabildner sind die Stämme Nr.29, 30, 36 und 38. Das Aroma entwickelt sich am besten auf dem but-

terhaltigen Agar. Es ist hiernach wahrscheinlich, dass das häufig sehr annehme Aroma von Rohwürsten durch das Fettspaltungsvermögen der Aromabakterien bedingt ist.

Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Beurteilung nach

Nr. der Traubenzuckeragar
Wurst Wachstum Aroma Wertg.

Nilblausulfatbutt
Wachstum Aroma

29	+	schwach Fruchtsäure- ester	- +	+	schwach Fruchtsäure- ester
30	+	nicht aromatisch	-	+	nicht aromatisch
31	++	Sauermilch	+	+	Fruchtsäureester
32	+	nicht aromatisch	-	+	Fruchtsäureester
33	+	Sauermilch	+	+	leicht käsig
34	- +	schwach Sauermilch	- +	- +	Fruchtsäureester
35	- +	voll Butter	++	- +	Fruchtsäureester
36	+	Sauermilch	+	+	Fruchtsäureester
37	+	schwach Sauermilch	- +	++	Fruchtsäureester
38	+	Sauermilch	+	+	Erdbeer

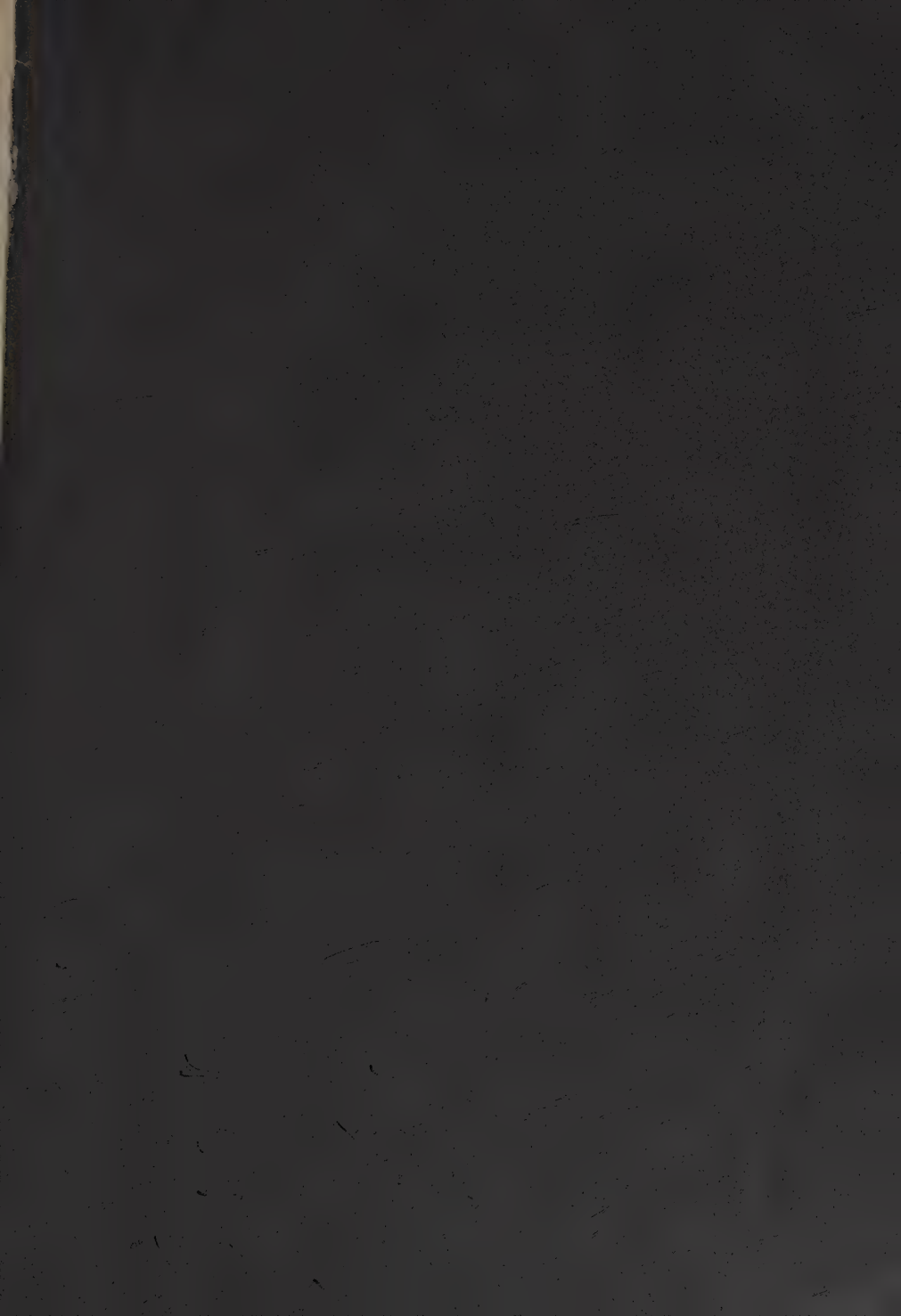
4 S t u n d e n .

=====

r a g a r Nilblausulfatbutteragar + 3 % Traubenzucker

tg. Wachstum Aroma Wertg.

+	schwach	-
	Fruchtsäure-	+
	ester	
+	Fruchtsäure-	+
	ester	
+	Fruchtsäure-	+
	ester +	
	Sauermilch	
+	Fruchtsäure-	+
	ester	
+	leicht käsig	+
-		
+	leicht käsig	+
+	Fruchtsäure-	+
	ester +	
	Sauermilch	
+	Fruchtsäure-	+
	ester +	
	Sauermilch	
+	Fruchtsäure-	++
	ester +	
	Sauermilch	
+	Fruchtsäure-	+
	ester +	
	Sauermilch	



Beurteilung n

Nr. der Wurst	T r a u b e n z u c k e r a g a r			N i l b l a u s u l f a t	
	Wachstum	Aroma	Wertg.	Wachstum	Aroma
29	+++	Sauermilch	+	+++	voll Frucht- säureester
30	+++	Sauermilch	+	+++	voll Frucht- säureester
31	+++	Sauermilch	+	+++	Fruchtsäures
32	+++	Sauermilch	+	+++	Fruchtsäures
33	+++	Sauermilch	+	+++	leicht käsig
34	+++	Sauermilch	+	++	Fruchtsäures
35	+++	Sauermilch	++	+++	Fruchtsäures
36	+++	Sauermilch Malzgeruch	++	+++	voll Frucht- säureester
37	+++	Sauermilch	+	+++	Fruchtsäures
38	+++	Sauermilch	+	+++	voll Frucht- säureester

nach 72 Stunden.

Butteragar		Nilblausulfat	Butteragar	+	3 % Traubenzucker
Wertg.		Wachstum	Aroma		Wertg.
+++		+++	Fruchtsäureester + Sauermilch		++
+++		+++	leicht käsig		++
+	er	+++	Fruchtsäureester + Sauermilch		+
++	er	+++	Fruchtsäureester		++
++		+++	Malzgeruch		++
+	er	+++	Fruchtsäureester + Sauermilch		+
++	er	+++	Fruchtsäureester + Sauermilch		+
+++		+++	Fruchtsäureester		++
++	er	+++	Fruchtsäureester Malzgeruch		++
+++		+++	Fruchtsäureester + Sauermilch		++

5.) Untersuchungen über die Aromabildung in Nährbouillon

Es soll festgestellt werden, ob sich die Bildung eines bakteriell erzeugten Aromas in Nährbouillon, die in Reagenzgläsern abgefüllt ist, besser beurteilen lässt.

Der Bouillon werden 1.) Kristallpur (Kristallpur besteht aus 17 % Glukose, 30 % Maltose und 50,5 % Dextrinen + 2,5 % H_2O), 2.) Traubenzucker und 3.) Glycerin zugesetzt und zwar in folgenden Konzentrationen:

- 1.) Nährbouillon + 3 % Kristallpur
- 2.) Nährbouillon + 3 % Traubenzucker
- 3.) Nährbouillon + 3 % Glycerin

Die Überimpfung der Aromastämme Nr.29 bis 38 auf die drei Bouillonarten geschieht unter sterilen Bedingungen. Nach 72-stündigem Wachstum erfolgt die Beurteilung der Aromabildung.

Es ist die Frage zu lösen, bei welchem Zusatz die Entwicklung des Aromas am besten ist.

E r g e b n i s :

Die Bakterien zeigen in allen Bouillonröhrchen ein starkes Wachstum.

In den Bouillonkulturen + 3 % Kristallpur ist die Aromaentwicklung schwach bis mittelmässig. Nr.32 produziert einen leicht käsigen Geruch. Nr.33 und Nr.38 entwickeln ein angenehmes Fruchtaroma.

Die Aromaentwicklung in den Bouillon-Traubenzuckerröhrchen ist etwas stärker als in den vorhergehenden. Nr.32 riecht gleichfalls nach Käse und die Nr.29, 33, 37 und 38 erzeugen einen angenehmen aromatischen Duft.

Am besten ist das Geruchsaroma beim Zusatz von Glycerin. Nr.32 riecht auch hier käsig, während die Nr.33 und 38 ein volles, angenehmes Fruchtaroma bilden. Die gute Aromaentwicklung in den Bouillonröhrchen + Glycerin ist durch die Bildung von wohlriechenden Estern zu erklären.

Die besten Aromabildner sind Nr.33 und 38, jedoch ist die Aromabildung in Nährbouillon mit Glyzerinzusatz nicht so deutlich wie auf den Nilblausulfat-butteragarplatten.

Durch Erhitzen der Bouillonröhrchen ist eine bessere Bestimmung des Aromas nicht möglich. Beim Erhitzen eines jeden Röhrchen trat ein Karamelgeruch auf, der störend wirkte. Die Prüfung des Aromas in nicht erhitzten Bouillonkulturen ist also vorzuziehen.

Die Ergebnisse über das Wachstum der Aromabakterien in Bouillonröhrchen sind in nachstehender Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Nr. der Wurst	Bouillon + Wachstum	3 % Kristallpur Aroma	Wertg.	Bouillon + Wachstum	3 % T Aroma
29	+++	angenehm blumig	+	+++	angenehm aromat.
30	+++	aromatisch	+	+++	aromat.
31	+++	aromatisch	+	+++	aromat.
32	+++	aromatisch leicht käsig	+	+++	leicht
33	+++	schön Fruchtsäure- ester	++	+++	schön Frucht- ester
34	+++	aromatisch	+	+++	aromat.
35	+++	aromatisch	+	+++	aromat.
36	+++	aromatisch	+	+++	aromat.
37	+++	schwach aromatisch	- +	+++	aromat.
38	+++	schön Fruchtsäure- ester	++	+++	schön Frucht- ester

Fruchtsäure- Zucker	Wertg.	Bouillon + Glycerin		Wertg.
		Wachstum	Aroma	
sch	++	+++	angenehm blumig	++
sch	+	+++	angenehm aromatisch	++
sch	+	+++	aromatisch	+
käsige	+	+++	leicht käsige	+
Fruchtsäure- ester	++	+++	schön Fruchtsäure- ester	+++
sch	+	+++	aromatisch	+
sch	+	+++	aromatisch	++
sch	+	+++	angenehm aromatisch	++
sch	++	+++	angenehm aromatisch	++
Fruchtsäure- ester	++	+++	angenehm voll Frucht- säureester	+++

- 6.) Untersuchungen über die Beeinflussung des PH - Wertes von Nährbouillon mit Traubenzucker- und Glycerinzusatz durch die verwendeten Aromabakterienstämme.

Je zehn Röhrchen Bouillon + 3 % Traubenzucker und je zehn Röhrchen Bouillon + 3 % Glycerin werden mit je einem Stamm der zehn Aromabildner beimpft und bei Zimmertemperatur von 12° C aufgestellt. Die Bouillon ist auf PH 7,5 eingestellt. Nach 3-wöchigem Wachstum der Bakterien wird die PH - Wert - Änderung festgestellt.

Die PH - Wert - Bestimmung geschieht mittels des PH - Meters 22 der Firma K. Hillerkus, Krefeld.

E r g e b n i s :

In Nährbouillon + 3 % Traubenzucker ist ausser bei Nr.30 ein deutliches Absinken des PH - Wertes zu bemerken. Der Durchschnitts - PH - Wert liegt bei 4,8- Die Säuerung ist mit grosser Wahrscheinlichkeit auf die Bildung von Milchsäure aus Traubenzucker durch die Aromabakterien zurückzuführen.

Stamm Nr.30 (Alcaligenes) bleibt auf PH 7,5 stehen.

Bouillon + Glycerin erfährt eine geringgradigere Säuerung. Nr.30 und 31 sind dabei sogar auf PH 7,85 bzw. PH 7,65 angestiegen. Nr.29 ist nur auf PH 7,4 abgesunken. Der Durchschnitts - PH - Wert der anderen Stämme liegt bei PH 5,85.

Es kann also für die Stämme 29 und 32 bis 38 gesagt werden, dass sie aus Traubenzucker Säure bilden, jedoch Glycerin nur schwach anzugreifen vermögen.

Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Aromastämme bezeichnet nach der Nr. der Würste	Bouillon + Traubenzucker	Bouillon + Glyzerin
29	4,9	7,4
30	7,5	7,85
31	4,9	7,65
32	4,8	6,75
33	4,7	6,5
34	4,9	5,3
35	5,01	5,2
36	4,8	5,3
37	4,5	6,6
38	4,81	6,6

7.) Rückzüchtung der Aromabakterien aus den damit beimpften Würsten.

Vier Wochen nach Fertigstellung der Würste werden nach Abbrennen der Oberfläche Proben steril entnommen und auf Agar-, Traubenzuckeragar- und Nilblausulfatbutteragarplatten ausgestrichen. Die Platten werden bei einer Temperatur von 12° - 13° C aufbewahrt.

Die entnommenen Proben jeder Wurst werden auf je eine Platte ausgestrichen. Die Beurteilung erfolgt nach 72-stündigem Wachstum. Die Kontrollwürste werden nicht untersucht.

E r g e b n i s :

Das Wachstum ist auf allen Platten mittelmässig bis stark. Die Aromabakterien sind, abgesehen von einigen anderen Kolonien fast in Reinkultur gewachsen.

Auf den Agarplatten ist die Aromaentwicklung schwach bis mittelmässig. Nr.36 lässt das Aroma "Edelfäule der Trauben" erkennen. Im übrigen bildet sich ein mehr oder weniger starkes Fruchtsäureesteraroma.

Nr. der Wurst	A g a r		Wertg.	T r a u b e n z u c k e r a	
	Wachstum	Aroma		Wachstum	Aroma
29	+++	nur schwaches Aroma	- +	+++	Fruchtsäure- ester
30	+++	nur schwaches Aroma	- +	+++	Sauermilch
31	++	Fruchtsäure- ester	++	++	Sauermilch
32	+++	schwach aromatisch	+	+++	Sauermilch
33	+++	schwach aromatisch	+	++	Sauermilch
34	++	schwach aromatisch	+	+	schwach nach Sauermilch
35	++	Fruchtsäure- ester	++	++	schwach nach Sauermilch
36	++	Edelf. der Trauben	++	++	Sauermilch
37	+++	Fruchtsäure- ester	+	+++	Sauermilch
38	+++	Fruchtsäure- ester	++	+++	Sauermilch

N i l b l a u s u l f a t b u t t e r a g a r				
Wertg.	Wachstum	Aroma	Fettspaltung	Wertg.
+	+++	Fruchtsäure- ester	+	+
+	+++	Fruchtsäure- ester	+	+
++	++	voll Frucht- säureester	+	++
+	+++	voll Frucht- säureester	+	++
++	++	voll Frucht- säureester	+	++
+	++	Fruchtsäure- ester	+	+
+	++	voll Frucht- säureester	+	++
++	++	voll Frucht- säureester	+	++
+++	++	scharf Frucht- säureester	+	+++
+++	+++	sehr angenehm Erdbeer	+	+++

Die Traubenzuckeragarplatten weisen wieder den Sauermilchgeruch auf, der am stärksten bei Nr.37 und 38 entwickelt ist.

Alle auf den Nilblausulfatagarplatten wachsenden Kolonien spalten Fett. Die Aromaentwicklung ist auf diesen Platten am deutlichsten. Nr.38 produziert wie bei der Erstzüchtung ein angenehmes Erdbeeraroma. Nr.37 weist ein scharfes, würziges Fruchtsäureesteraroma auf.

Die Ergebnisse sind in vorstehender Tabelle (Seite 28a) übersichtlich zusammengestellt.

Die Rückzüchtung der Aromabakterien nach acht Wochen erfolgt auf Agar- und Nilblausulfatbutteragarplatten. Es soll hierbei auch festgestellt werden, ob in den Kontrollwürsten Aromabakterien nachweisbar sind. Die Platten werden bei 12° bis 13° C aufbewahrt, die Beurteilung erfolgt nach 72 Stunden.

E r g e b n i s :

Auf den Agarplatten ist ein besseres Wachstum zu verzeichnen als auf den Nilblausulfatbutteragarplatten. Die Aromabildung auf Agar ist mittelmässig bis schwach. Bei Nr.36 ist geruchlich das Aroma der "Edelfäule der Trauben" wahrnehmbar. Von den Kontrollwürsten bilden die aus K₁, K₂ und K₅ gezüchteten Kolonien ein schwaches Fruchtsäureesteraroma.

Die Aromaentwicklung auf den Nilblausulfatbutteragarplatten zeigt folgendes Bild:

Nr.38 bildet ein schönes, volles Erdbeeraroma. Die Nr.35, 36 und 37 sind ebenfalls gute Aromabildner. Auch bei den aus den Kontrollwürsten gezüchteten Kolonien ist mittelmässig Aromabildung bei K₂ und K₅ nachweisbar, jedoch nicht so stark, wie bei den Versuchswürsten.

Damit ist nachgewiesen, dass sich auch in den Kontrollwürsten, die keinen Zusatz von Aromabakterien enthielten, diese Bakterien befanden und zu einer Aromabildung Veranlassung gaben.

Es kann weiter aus diesen Untersuchungen gefolgert werden, dass eine geruchliche und geschmackliche Beeinflussung von Rohwürsten zu einem nicht unwesentlichen Teil von dem Gehalt an Aromabakterien abhängt.

Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Nr. der Wurst	A g a r		Nilblausulfatbutteragar				Wertg.
	Wachst.	Aroma	Wertg.	Wachst.	Aroma	Fett- spaltg.	
29	+++	Fruchtsäu- reester	+	++	Fruchtsäu- reester	+	+
30	+++	schwach Fruchtsäu- reester	- +	++	Fruchtsäu- reester	+	+
31	++	Fruchtsäu- reester	++	+	voll Frucht- säureester	+	++
32	+++	schwach Fruchtsäu- reester	- +	++	voll Frucht- säureester	+	++
33	+++	Fruchtsäu- reester	++	++	voll Frucht- säureester	+	++
34	++	nur schwach aromatisch	- +	+	voll Frucht- säureester	+	++
35	++	Fruchtsäu- reester	++	+	stark Fruchtsäu- reester	+	+++
36	++	Edelf. der Trauben	++	+	stark Fruchtsäu- reester	+	+++
37	+++	Fruchtsäure- ester	+	++	würzig aromatisch	+	+++
38	+++	Fruchtsäu- reester	+	++	sehr ange- nehm Erdbeer	+	+++
K ₁	+++	Fruchtsäu- reester	+	++	Fruchtsäu- reester	+	+
K ₂	+++	Fruchtsäu- reester	+	++	voll Frucht- säureester	+	++
K ₃	++	schwach aromatisch	- +	++	Fruchtsäu- reester	+	+

Nr. der Wurst	A g a r		Nilblausulfatbutteragar				
	Wachst.	Aroma	Wertg.	Wachst.	Aroma	Fett- spaltg.	Wertg.
K ₄	++	schwach aromatisch	+	+	leicht käsigt	+	+
K ₅	++	Fruchtsäu- reester	+	+	voll Frucht- säureester	+	++

Mit den rückgezüchteten Aromabakterien wurden Gelatinestichkulturen angelegt, um das Vermögen, Gelatine zu verflüssigen, zu überprüfen, nachdem die verwendeten Stämme acht Wochen lang in den Rohwürsten gewesen sind.

E r g e b n i s s :

Eine Gelatineverflüssigung ist, Übereinstimmend mit den Ergebnissen von K o h n l e , ausser bei den Stämmen 32 und 33 (nach zehn Tagen) nicht festzustellen.

Die Eigenschaften der verwendeten Stämme bezüglich der Gelatinolyse sind die gleichen geblieben.

Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

Nr. der Wurst	Gelatineverflüssigung
29	-
30	-
31	-
32	+
33	(+)
34	-
35	-
36	-
37	-
38	-

IV. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

- 1.) Aromabakterien sind nach S e w e r i n in der Lage, aus den Stoffwechselprodukten ihrer Begleitbakterien duftende, esterartige Stoffe zu bilden.

Im Rahmen dieser Arbeit wird nachgewiesen, dass die Aromabildner sehr wahrscheinlich durch Aufspaltung von Traubenzucker und Fett Aroma zu bilden vermögen.

- 2.) Die Züchtung der Aromabakterien erfolgt am besten auf Nilblausulfatbutteragar nach T u r n e r , da dort die Aromabildung am deutlichsten hervortritt.
- 3.) In Nährbouillon mit 3 % Glycerin ist die Aromaentwicklung gleichfalls sehr gut.
- 4.) Eine bessere Wahrnehmung der aromatischen Stoffe durch Erhitzen von Bouillonkulturen der Aromabakterien ist nicht möglich.
- 5.) Auf PH 7,5 eingestellte Bouillonkulturen mit 3 % Traubenzuckerzusatz werden nach 3-wöchigem Wachstum der Aromabakterien bis durchschnittlich PH 4,8 gesäuert. Bei einem Alcaligenes-Stamm (30) trat keine Säuerung der Bouillon ein. Bei Zusatz von 3 % Glycerin zur Nährbouillon trat eine nur geringgradige Säuerung ein. Bei zwei Stämmen aus der Alcaligenes-Gruppe erhöhte sich der PH-Wert auf PH 7,65 bzw. 7,85.
- 6.) Eine geruchliche und geschmackliche Verbesserung von Rohwürsten durch Zusatz von Aromabakterien ist möglich. Wesentlich dabei ist, dass die Trocknung, die Räucherung und die spätere Aufbewahrung bei einer Temperatur von 12° bis 13° C erfolgen, da hier das Wachstumsoptimum der Aromabildner liegt.

Von den zehn verwendeten Stämmen eignet sich am besten der Stamm Nr.38 (Escherichia).
- 7.) Vier Wochen nach der Herstellung liegt der PH-Wert der Versuchswürste im

Durchschnitt bei PH 6,35. Die Kontrollwürste haben einen Durchschnitts-PH-Wert von PH 6,49.

Nach acht Wochen ist sowohl bei den Versuchswürsten als auch bei den Kontrollen eine weitere Säuerung eingetreten. Der Durchschnitts-PH-Wert der Versuchswürste liegt bei PH 6,325 und der der Kontrollwürste bei PH 6,35.

Eine letzte Untersuchung der Würste erfolgt nach zwölf Wochen.

In den Würsten ist weder NH_3 noch H_2S nachzuweisen.

- 8.) Die Rückzüchtung der Aromabakterien aus den Versuchswürsten ist sowohl nach vier Wochen wie nach acht Wochen gelungen.

Wenn die Züchtung bei 12° bis 13°C erfolgt, erhält man nahezu Reinkulturen.

- 9.) Auch in den Kontrollwürsten sind Aromabakterien nachweisbar. Es ist anzunehmen, dass die Geruchs- und Geschmacksqualität der Rohwürste wesentlich von den in ihnen enthaltenen Aromabildnern abhängig ist.

Schrifttumsverzeichnis

- 1.) Beck: Über einen Fruchttäther bildenden Micrococcus (*Micrococcus esterificans*). Arb.a.d.kaiserl.Gesundheitsamt XXIX, 2.
- 2.) Bergey: Manual of Determinative Bacteriology, 6th edition, Baltimore 1948.
- 3.) Borchardt, F.: Über den PH-Wert von Würsten und seine Bedeutung für die Haltbarkeit derselben. Dissert. Hannover 1938.
- 4.) Eichholz, W.: Erdbeerbacillus (*Bact. Fragi*). Zbl. Bkt. II Abt. 9, 425, 1902.
- 5.) Fettick, O.: Erdbeergeruch erzeugendes Bakterium (*Pseudomonas fragaroidea* Huß) als Ursache eines Milchfehlers. Ztschr. Fleisch- und Milchhygiene 21, 280, 1911.
- 6.) Folda, W.: Aromabildung im Säurewecker. Milchwissenschaft Jahrg. 7, 2, 49, 1952.
- 7.) Glage: Über die Bedeutung der Aromabakterien für die Fleischhygiene. Ztschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 11, 131, 1901.
- 8.) Grimm, M.: Über einen neuen aromabildenden Bacillus nebst einigen Bemerkungen über Reinkulturen für Exportbutter. Zbl. Bakt. II, 8, 584, 1902.

- 9.) Gruber, Th.: *Pseudomonas Fragariae*, eine Erdbeergeruch erzeugende Bakterie.
Zbl. Bkt. II, 9, 705, 1902.
- 10.) Gruber, Th.: Ein weiterer Beitrag zur Aromabildung speziell zur Bildung des Erdbeergeruchs in der Gruppe "Pseudomonas", *Pseudomonas Fragariae* II.
Zbl. Bkt. II, 14, 122, 1905.
- 11.) Harrison, F.C.: A comparative study of sixty-six varieties of gas producing bacteria found in milk.
Zbl. Bkt. II, 14, 479, 1905.
- 12.) Heino, S.: Über Vorkommen und Biologie halophiler Bakterien besonders in eingesalzenen Nahrungsmitteln.
Dissert. Hannover 1929.
- 13.) Henrici, J.: Beitrag zur Bakterienflora des Käses. (Migula, T.H. - Karlsruhe, 1894)
Zbl. Bkt. II, 17, 647, 1907.
- 14.) Huss, H.: Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien. *Bac. esterificans* Maassen und *Pseudomonas Trifolii* nov. spec.
Zbl. Bkt. II, 19, 50, 1907.
- 15.) Huss, H.: Beitrag zur Kenntnis der Erdbeergeruch erzeugenden Bakterien. *Pseudomonas fragaroidea* nov. spec.
Zbl. Bkt. II, 19, 661, 1907.
- 16.) Jakobsen, A.: Untersuchungen über zubereitete Fleischwaren.
Ztsch. f. Fleisch- und Milchhygiene, 32, 217, 1922

- 17.) Klimmer-Schönberg: Milchkunde und Milchhygiene.
6, 287, 1951.
- 18.) Kohnle, K.: Über das Vorkommen von halophilen und
aromabildenden Keimen in Rohwürsten.
Dissert. Giessen 1953.
- 19.) Kurono, K.: Studies on the butyric acid forming
Bacillus of "Sakè - Moromi".
Zbl. Bkt. II, 37, 289, 1913.
- 20.) Löhnis, F.: Versuch einer Gruppierung der Milch-
säurebakterien.
Zbl. Bkt. II, 18, 122, 1907.
- 21.) Leck , J. van der : Aromabildende Bakterien in der Milch.
Zbl. Bkt. II, 17, 647, 1907.
- 22.) Maassen, A.: Fruchtätherbildende Bakterien.
Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt.
15, 500, 1899.
- 23.) Matzuschita, T.: Über neue Bakterien.
Bac. odoratus n. sp. Aus Butter isoliert.
Zbl. Bkt. I, 29, 388, 1901.
- 24.) Omelianski, V.L.: Aroma producing microorganism.
Journ.Bacteriol. Vol. 8, 393, 1923.
- 25.) Pammel, L.H.: An aromatic bacillus of cheese.
Bull. No. 21 Ia. Agl. Exp. Sta. 792.
- 26.) Pammel, L.H. und E.: A contribution on the gases produced
by certain bacteria.
Zbl. Bkt. II 2, 633, 1896.
- 27.) Reinmann, R.: Untersuchungen über die Ursachen des
Ranzigwerdens der Butter.
Zbl. Bkt. II, 6, 210, 1900.

- 28.) Sewerin, S.A.: Über eine neue, in Butter aromabildende Bakterienart.
Zbl. Bkt. II, 11, 202, 1904.
- 29.) Schönberg, F.: Die Untersuchung von Tieren stammender Lebensmittel.
R. Schoetz-Verlag, Berlin, 1936.
- 30.) Sumiyoshi, Y.: Bac. aromaticus aerogenes caviae n.sp.
Zbl. Bkt. I, Orig. 90, 461, 1923.
- 31.) Weigmann und Wolff: Weitere bakteriolog. Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis.
Milchwirtschaftl. Zbl. 1, 23, 1912.

Am Schluss meiner Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. H. K e l l e r für die Überlassung des Themas, sowie für das stets gezeigte Interesse und die erteilten Anregungen herzlich danken.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Dr. B u B , Herrn Dr. L a n g und allen Angehörigen des Institutes für tierärztliche Nahrungsmittelkunde für die jederzeit gern gewährte Unterstützung.

Lebenslauf

Ich wurde am 26. 2. 1926 als Sohn des Viehkaufmannes Fritz Meyer und seiner Ehefrau Irma, geb. Benecke, in Dillenburg / Hessen geboren. 1932 trat ich in die Volksschule und 1936 in das Realgymnasium in Dillenburg ein. 1944 kam ich zum Militär und wurde 1945 kurz nach Beendigung des Krieges aus Gefangenschaft entlassen.

1946 bestand ich die Reifeprüfung am Realgymnasium in Dillenburg und arbeitete bis zum Beginn meines Studiums an der Justus Liebig-Hochschule in Gießen im Geschäft meines Vaters.

1950 bestand ich die tierärztliche Vorprüfung und 1953 die tierärztliche Prüfung.

Seit April 1953 bin ich in der tierärztlichen Praxis tätig.

